

CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE LA CORTISOLEMIE PLASMATIQUE
DU CHIEN.

RELATION AVEC LES ANDROGENES.

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD de LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 1^{er} Décembre 1981

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Etienne BENOIT

né le 4 Mars 1956

à STRASBOURG (Bas-Rhin)





Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554213_0003

CONTRIBUTION A L'ETUDE
DE LA CORTISOLEMIE PLASMATIQUE
DU CHIEN.

RELATION AVEC LES ANDROGENES.

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD de LYON

(Médecine - Pharmacie)

et soutenue publiquement le 1^{er} Décembre 1981

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

Etienne BENOIT

né le 4 Mars 1956

à STRASBOURG (Bas-Rhin)



CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA CORTISOLÉMIE PLASMATIQUE DU CHIEN. RELATION AVEC LES ANDROGENES.

THÈSE

présentée

A L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD DE LYON

(Médecine - Vétérinaire)

et soutenue publiquement le 1^{er} Décembre 1981

pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire

par

ERIK BENOIT

né le 4 Mars 1955

à Saint-Jacques (France)



1.09.1961

ETAT DES MEMORES DU CORPS ENSEIGNANT EN FONCTION A L'E'COLE NATIONALE VETERINAIRE DE LYON

Directeur : Professeur Philippe COTTEREAU

CHAIRES	Professeurs	Professeurs sans Chaire	Maitres de Conférences	Maitres Assistants Agrégés	Maitres Assistants	Assistants
Alimentation	M. JEAN-DLATIN	-	-	-	-	M. GRAUCHIER
Anatomie	M. BAROHE	-	-	-	M. DEMOIX	M. SARSAT
Chirurgie	M. COULON	M. L.F. NIHOUMANNEN	-	-	M. FAU	M. BERTHELET
Histologie - Anatomie Pathologique	M. TISSEUR	M. GASTELLU	-	-	-	Mme GRAUCHER-WATRCLOT
Hygiène et Industrie des Aliments d'origine animale	M. CHANTECRELET	-	-	-	M. DEMOIT	-
Maladies contagieuses	M. JOUBERT	M. PRAVE	-	-	M. CHOMEL	M. DUCLOS
Parasitologie	M. EUZEBY	-	M. CEVREY	-	Mme CHAUVE	M. HIGO TAN Hur
Pathologie Générale - Microbiologie - Immunologie	M. OUDAR	-	M. RICHARD	-	Mme GUERIN	M. GUERIN
Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour	M. COTTEREAU	-	Mme BRUGERE	-	M. THIN	Mlle VALLARD
Pathologie médicale des équidés et des carnivores	M. FONTAINE	M. LAPRAS	-	M. LECEAY	-	M. BOUVIER
Pathologie de la reproduction	M. BERTRAND	M. DESCHAMIEL	-	-	Mme RACHAIL	M. HODET
Pharmacie-Toxicologie	M. LORQUE	-	M. KECK	-	M. JAUSSAUD	Mme PEPIN-RICHARD
Physiologie	M. BOST	M. BOIVIN	-	-	-	M. THIFFEAULT
Physique-Chimie	M. DELATOUR	-	-	-	M. GARNIER	M. MARTIN
Zootecnie	M. FROGET	M. FRANCK	-	-	Mme GRAIN	Mme LEBVRE / FROGET

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur MORNEX
Président de l'Université Claude Bernard
LYON I

Qui nous a fait l'honneur d'accepter
la présidence de notre jury de thèse.

Très respectueux hommage.

A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur DELATOUR
Professeur à l'Ecole Nationale
Vétérinaire de LYON

Pour l'aide qu'il nous a apportée
à la réalisation de ce travail et
pour l'amabilité qu'il nous a tou-
jours témoignée.

Monsieur le Professeur KECK
Professeur à l'Ecole Nationale
Vétérinaire de LYON

Qui a bien voulu accepter de faire
partie de notre jury de thèse.

INTRODUCTION

Le diagnostic étiologique des affections dermatologiques de l'espèce canine fait souvent appel à l'existence de troubles d'origine surrénale. Les symptômes cliniques de ces troubles endocrinins n'étant pas univoques, il est souvent nécessaire d'avoir recours à un diagnostic expérimental.

Nous avons donc entrepris dans une première partie une analyse bibliographique de la cortisolémie du chien.

Sur les bases de cette analyse a été mis au point expérimentalement un protocole d'exploration fonctionnelle de la glande surrénale. Enfin l'existence d'interférences autant à court terme qu'à long terme entre les affections surrénales et certains troubles sexuels ainsi que l'opportunité dont nous disposions d'effectuer des dosages de testostérone nous ont incité à nous intéresser aux relations existant entre les agressions et la sécrétion de cette hormone.

PREMIERE PARTIE

ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I

BIOCHIMIE DES GLUCO-CORTICOIDES

DANS L'ESPECE CANINE

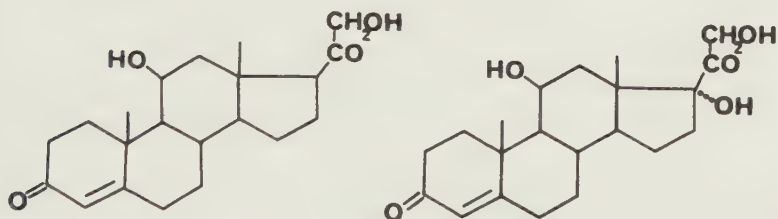
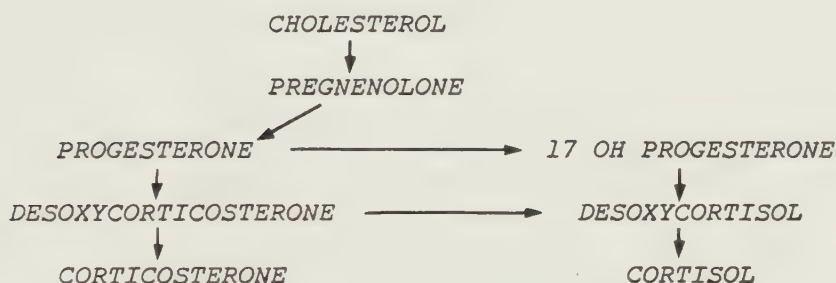
La bibliographie consacrée à la biochimie des gluco-corticoïdes étant très abondante, cette partie ne sera consacrée qu'aux aspects particuliers au chien et ayant des implications diagnostiques ou pathologiques.

1 - BIOSYNTHESE

Elle a lieu dans la zone fasciculée du Cortex surrénal.

Le Cortex surrénal est divisé histologiquement en trois zones. La plus extérieure, zone glomérulée, sécrète les minéralo-corticoïdes. La zone intermédiaire est la zone fasciculée. La zone profonde, réticulée, sécrète les androgènes, oestrogènes et progestagènes surrénaux.

Elle a pour point de départ soit l'acétyl CoA, soit le plus souvent le cholestérol préformé plasmatique ou endogène. Elle aboutit au Cortisol. Le taux de production de gluco-corticoïde est de l'ordre de 924 à 1465 µg/glande-heure.



Il n'existe pas de rythme nycthéméral évident de la sécrétion de cortisol chez le chien.

Bien qu'il semble qu'un rythme nycthéméral de sécrétion de cortisol puisse être démontré, on ne peut le mettre en évidence que dans des conditions très particulières telles que :

- animal cathétérisé,
- prise de sang sans que l'animal s'en aperçoive,
- respect absolu de la photopériode.

D'un point de vue clinique, il n'existe donc pas de rythme nycthéméral de la sécrétion de cortisol chez le chien (10).

Le catabolisme des gluco-corticoïdes est hépatique et rénal, aboutissant à l'élimination de dérivés réduits et glycurono-conjugés.

On retrouve dans les urines de forts taux de 17-hydroxy-stéroïdes qui à la différence de l'homme sont fréquemment réduits en 20 : ce sont des 17-20-21-OH-stéroïdes. Les 17-ceto-stéroïdes urinaires du chien n'ont pas une origine gluco-corticoïde et donc n'augmentent pas (contrairement à ce qui se passe chez l'homme) après une administration d'ACTH.

Le Cortisol est le principal glucocorticoïde synthétisé (22), (1). Le rapport cortisol sur corticostérone varie généralement entre 3 et 4.

2 - TRANSPORT ET DEGRADATION

Le cortisol est transporté dans le plasma sanguin de trois façons :

- libre : moins de 10 %

Cette forme est la seule physiologiquement active et accessible aux processus de dégradation.

- liée à la transcortine

La transcortine ou CBG (Cortisol Binding Globulin) ou CBP (Cortisol Binding Protein) fixe spécifiquement le cortisol mais également la corticostérone et la progestérone.

- liée à la sérum-albumine

Cette fixation est peu spécifique. Elle est d'autant plus importante que le taux du cortisol plasmatique est élevé.

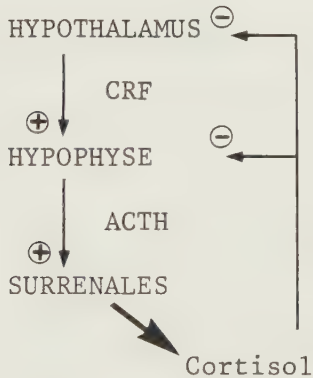
La concentration plasmatique varie entre 25 et 80 nanomoles/litre.

Le taux de cortisol plasmatique varie énormément sous l'effet de nombreux facteurs (voir 2e partie, chapitre I, 1er §).

3 - REGULATION

Elle procède d'un [/]rétro-contrôle négatif du cortisol sur l'axe hypothalamo-hypophysaire.

Schéma du contrôle de la sécrétion de cortisol



Le facteur hypothalamique est le CRF (Cortico Releasing Factor).

*Le CRF est transporté par le système porte hypothalamo-hypophysaire jusqu'à l'ante-hypophyse. La sécrétion résulte d'informations psychosensorielles telles qu'agression, stress, etc... et humo-
rales : hypoglycémie et hypocorticolémie.*

Le facteur hypophysaire est l'ACTH (Adreno-corticotrophine hormone).

Le facteur libéré dans le plasma provoque la sécrétion de glucocorticoïdes surrénaux. La sécrétion est induite par

divers facteurs tels que ceux influençant la sécrétion de CRF.

Des stimulations neurogènes d'origine hypothalamique peuvent induire la sécrétion de CRF et d'ACTH malgré le rétro-contrôle négatif des gluco-corticoïdes (5).

4 - FONCTIONS BIOCHIMIQUES

Le cortisol active fortement la néo-glycogénèse mais il n'est paradoxalement pas hyperglycémiant chez le chien.

- Il agit au niveau de la phosphoénolpyruvate-carboxykinase (PEPCK) et de la pyruvate-kinase. Il augmente, de même, le catabolisme des acides aminés gluco-formateurs. C'est pourquoi, chez la plupart des espèces il est hyperglycémiant. Mais chez le chien ce phénomène est prévenu par une sécrétion très précoce d'insuline.
- Les chiens atteints de syndrome de Cushing ont une sécrétion d'insuline accrue (16).
- On note également chez le chien un diabète d'origine iatrogène dont l'étiologie réside dans des administrations répétées de gluco-corticoïdes rémanents, le pancréas subissant une "atrophie d'épuisement".
- A l'inverse, une administration d'insuline est suivie par une sécrétion accrue de cortisol (13).

Le cortisol agit sur l'équilibre ionique.

Il est natriurique à doses physiologiques alors qu'à doses supérieures (Cushing) il a un effet minéralocorticoïde impliquant une rétention sodée, une fuite potassique et calcique ; inhibant en outre l'absorption intestinale du calcium, il est à l'origine des ostéoporoses observées lors d'hypercorticisme.

Le cortisol agit également sur :

- le sang
- le système nerveux central
- l'appareil broncho-pulmonaire
- la réaction immunitaire
- l'anabolisme protéique, etc...

Les effets pharmacologiques des glucocorticoïdes ne sont pas observés aux doses physiologiques.

Leurs effets anti-inflammatoires ne sont observés qu'aux doses thérapeutiques.

5 - BIOCHIMIE PATHOLOGIQUE (8), (19), (20)

* Les syndrômes d'hypocorticisme

- L'insuffisance surrénale aiguë

Elle semble très rare, elle survient, comme chez l'homme, à la suite de septicémie.

- La maladie d'Addison

90 % des insuffisances corticales chroniques primaires sont dues à des phénomènes atrophiques du cortex surrénal. Elles sont observées chez des chiens âgés de 1 à 3 ans mais très rarement au-dessus de 5 ans.

Les lésions histologiques et la présence fréquente d'anticorps anti-surrénaux font supposer généralement une étiologie auto-immune.

- Amyloïdose surrénale

- Insuffisance iatrogène

Elle fait suite à des traitements à long terme par les corticoïdes provoquant une aplasie surrénale ou une insuffisance hypophysaire. Elle est souvent réversible.

De nombreux autres syndrômes connus en médecine humaine ne sont que rarement, voire jamais, décrits chez le chien.

Il s'agit principalement d'insuffisance surrénale d'origine hypothalamique ou hypophysaire, ainsi que des déficits génétiques en certains enzymes du métabolisme des gluco-corticoïdes.

* Les syndrômes d'hypercorticisme

(= le syndrôme de Cushing)

Ce vocable désigne toutes les hyper-sécrétions de gluco-corticoïdes connues chez le chien. Il reconnaît quatre étiologies majeures :

a) Tumeur hypophysaire

Il convient d'appeler ce syndrôme, Maladie de Cushing. Les tumeurs sécrètent en général une forte quantité d'ACTH entraînant une hyperplasie surrénale avec une intense sécrétion de cortisol.

Histologiquement il s'agit d'adénocarcinomes ou d'adénomes chromophobes (chez l'homme les tumeurs les plus fréquentes sont des tumeurs basophiles).

Cette étiologie représente 10 à 15 % des cas de Syndrôme de Cushing.

b) Tumeur surrénale

Ces tumeurs sont généralement sécrétantes et sensibles à l'ACTH. Il s'agit surtout d'adénomes ou d'adénocarcinomes unilatéraux (13).

Les tumeurs surrénales ne couvrent que 5% des cas de Syndrôme de Cushing.

c) Anomalies du rétro-contrôle négatif
ou "hyperplasie" surrénale.

Il s'agit de l'étiologie majeure du syndrome de Cushing (80 % des cas).

Une hypercortisolémie n'inhibant plus les centres des contrôles, le taux d'ACTH reste toujours élevé impliquant une stimulation constante des surrénales et provoquant une hyperplasie bilatérale de ces organes.

d) "Cushing thérapeutique"

L'administration répétée de corticoïdes peut simuler un syndrome de Cushing. Les symptômes peuvent alors persister plusieurs mois après la fin du traitement. Celle-ci peut également être suivie par une hypoplasie corticale ou une insuffisance hypophysaire aboutissant à un syndrome d'insuffisance corticale chronique.

De toute la pathologie du Cortex surrénal du chien, le syndrome de loin le plus important, est le Syndrome de Cushing.

6 - RELATION CORTISOL - HORMONES SEXUELLES

Ce type de relation a été abondamment décrit.

- Interférence à court terme

On décrit une chute du taux de testostérone lors d'effort musculaire intense et prolongé.

L'épuisement de la sécrétion testiculaire pourrait être lié à une diminution du débit sanguin gonadique suivant une augmentation des catécholamines ou bien l'hypercortisolémie pourrait avoir une action inhibitrice sur la LHRH et sur la LH.

- Relation à long terme

Le type même de cette interférence est représenté par l'hypogonadisme en cas de syndrome de Cushing.

- . *Chez 30 % des chiens mâles cushingoïdes se développe une atrophie testiculaire.*
- . *Disparition fréquente des chaleurs chez les chiennes cushingoïdes.*

CHAPITRE II

EXPLORATION FONCTIONNELLE

DE L'AXE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSO-SURRENAL

DANS L'ESPECE CANINE

Le fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénal est exploré par le dosage du cortisol:

- dans des conditions physiologiques
 - . dosage direct du cortisol plasmatique ;
 - . recherche des catabolites urinaires du cortisol.
- dans des conditions artificielles
 - . ce sont les tests dynamiques.

1 - MESURE DE LA CONCENTRATION DU CORTISOL PLASMATIQUE (= cortisolémie)

Le Cortisol, gluco-corticoïde majeur, responsable des troubles biochimiques

et métaboliques observés lors d'hypercorticisme, semble, à priori, un paramètre à valeur diagnostique très pertinente.

* Les principales méthodes de dosage utilisées sont :

- le dosage fluorimétrique
- le dosage par compétition sur la transcortine (CPB)
- le dosage radio-immunologique (RIA) ou immunoenzymatique.

Seules les deux dernières méthodes sont suffisamment spécifiques pour être retenues. Le dosage à la transcortine dose en fait tous les gluco-corticoïdes avec en plus un croisement de l'ordre de 15 % pour la progestérone.

Le dosage RIA est, lui, très spécifique du Cortisol.

* Les prélèvements doivent être faits sur anti-coagulants (héparine) et le plasma rapidement séparé des hématies.

Si la séparation n'est pas faite dans les 30 minutes après prélèvement, la cortisolémie diminue rapidement par fixation du cortisol sur les globules rouges. En outre, elle diminue de 50 % en 6 à 8 semaines si le plasma n'est pas conservé congelé.

EN FAIT,

UNE DETERMINATION UNIQUE DE CORTISOL
PLASMATIQUE N'A PAS DE SIGNIFICATION CLINIQUE.

car :

- la sécrétion du cortisol est épisodique aussi bien chez les chiens normaux que chez les chiens atteints d'hypercorticisme ;

- différentes conditions peuvent affecter fortement la cortisolémie.

C. VIAL et al. montrent, sur 10 chiens, que ce taux est beaucoup plus faible (50 nmol/l) chez un animal dans son environnement habituel que chez ce même animal placé dans un contexte plus agressif, tel une clinique vétérinaire (105 nmol/l).

Un stress majeur (20) peut être suivi par un pic de cortisol avec des valeurs maximales égales à 25 fois le taux initial.

A un moment donné, un chien parfaitement normal peut donc présenter une cortisolémie très élevée.

- Des chiens atteints d'hypercorticisme peuvent présenter épisodiquement des taux de cortisol bas, quoique, en général, leur taux de cortisolémie soit assez élevé :

Tous ces faits expliquent la disparité des résultats obtenus par différents

laboratoires (voir tableau 1) aussi bien pour les valeurs du cortisol plasmatique d'animaux normaux que pour celles d'animaux atteints d'hypercorticisme.

Pour la plupart des auteurs les deux zones de valeurs de référence normales et pathologiques, se recouvrent tout au moins en partie.

* La cortisolémie moyenne sur 24 h (par évaluation toutes les 30 minutes) est très significative d'une pathologie surrénale.

Ce protocole n'est, hélas, pas applicable en clinique courante.

2 - DOSAGE DES METABOLITES URINAIRES

Ces dosages, qui nécessitent la mise en cage à métabolisme des animaux pendant au moins 24 heures et qui demandent généralement le sondage vésical des animaux en expérimentation, ne sont pas très faciles à mettre en oeuvre.

E.T. SIEGEL (18) montre l'importance des 17-20-21 tri-hydroxy-stéroïdes par rapport aux 17-21 dihydroxy-stéroïdes dans l'urine du chien. Or, seuls ces derniers sont dosés par la méthode de PORTER et SILBER (19) en médecine humaine. Celle-ci n'est donc pas utilisable en médecine vétérinaire. Il propose une méthode plus adaptée : le dosage des stéroïdes 17 cetogéniques qui, quantifie l'essentiel des métabolites urinaires des glucocorticoïdes du chien.

Ce même auteur et D.W. SCOTT (20) montrent une nette augmentation de ces métabolites urinaires chez des chiens atteints d'hyperplasie surrénale ou de tumeurs surrénales aussi bien au repos qu'après stimulation par l'ACTH. Néanmoins, ils ne montrent aucune différence notable entre ces deux affections.

3 - TESTS DYNAMIQUES

a) Test de stimulation à l'ACTH

Ce test caractérise la capacité de réponse surrénale. En effet, une administration d'ACTH exogène à dose supra-physiologique (2,2 UI/kg en I.M.) stimule la sécrétion de glucocorticoïdes de manière maximale. Cette stimulation est telle que l'on connaît ainsi la capacité maximale de production de cortisol en le dosant dans un prélèvement effectué entre 30 et 120 minutes après l'administration d'ACTH.

La durée de la stimulation est de 4 heures (10).

L'environnement et différentes agressions ne modifient pas la réponse à ce test (21).

Les résultats obtenus par CHARTAIN et GRAHAM (5) montrent la très nette corrélation entre l'intensité de la réponse à ce test et l'épaisseur des zones réticulées et fasciculées du cortex surrénal. Ce test paraît donc capital dans la surveillance clinique (15) des traitements

à base d'op'DDD, agent corticolytique, et peut être utilisé dans l'évaluation toxicologique de différents produits.

Chez des chiens atteints de tumeurs surrénales, cette tumeur peut être autonome, en ce cas la réponse à ce test est négative. MEIJER et al. (13) montrent que sur 9 chiens présentant des tumeurs surrénales (confirmées histologiquement) 8 répondent positivement à la stimulation (augmentation de 568 nanomoles par litre).

Chez des chiens insuffisants surrénaux la réponse est faible avec un taux de cortisol au repos faible. Il en est de même lors de "Cushing Thérapeutique" (20).

b) Test de freination par la Dexaméthasone

Ce test caractérise l'intégrité du rétro-contrôle négatif des gluco-corticoïdes sur l'hypothalamus et l'hypophyse. En effet, la Dexaméthasone inhibe la sécrétion de CRF et d'ACTH. Elle se révèle être 25 fois plus active que le cortisol et 3 fois plus que la prednisone. Elle entraîne donc une disparition du cortisol plasmatique. JOHNSTON (10), en administrant 0,1 mg/kg per os à des chiens, montre que le cortisol est non détectable entre 8 et 32 h après l'administration.

Différents protocoles sont utilisés en clinique. SIEGEL (19) applique la posologie décrite ci-dessus après avoir effectué un premier prélèvement sanguin ; 24 h après il fait une deuxième prise de sang. Il considère qu'il y a freination si le taux est diminué de 50 %.

D.W. SCOTT (20) propose deux épreuves :

- une épreuve normale : 4 prises per os de 0,5 mg de dexaméthasone sur 24 h.
- une épreuve renforcée comprenant 4 administrations orales de 2 mg de dexaméthasone.

En cas de non freination par le premier protocole, il utilise l'épreuve renforcée car l'épreuve normale ne "freine" pas les hyperplasies surrénales alors que le deuxième est réputé les freiner.

LUBBERINK (1977) montre que cette épreuve renforcée n'est pas très fiable.

Les tumeurs surrénales et hypophysaires ne sont jamais sensibles à cette épreuve.

MEIJER et al. utilisent une épreuve comprenant une administration I.V. de 0,01 mg/kg. Deux prélèvements sont effectués aux temps 0 et + 8 h après administration. Ils obtiennent une freination forte pour les chiens normaux (21 témoins) passant de 85,6 nmol/l au temps 0 à 13,8 nmol/l au temps + 8h. En cas de non freination, ils utilisent un protocole comprenant une administration de 0,1 mg/kg I.V. Ils montrent que même ainsi des chiens avec tumeurs surrénales (en grande majorité sensibles à l'ACTH) répondent toujours négativement à ce test.

c) Test à l'insuline

Une administration d'insuline provoquant une hypoglycémie notable chez le chien, induit une hypercortisolémie importante. Les tumeurs surrénales ne répondent pas à ce test.

MEIJER (13) montre qu'une administration de 0,4 UI/kg d'insuline provoque une augmentation de 174 ± 72 nmol/l du taux de cortisol. En revanche chez des animaux présentant des tumeurs surrénales cet accroissement n'existe pas. Sur 9 chiens de ce type un seul a réagi positivement par une augmentation de 82,8 nmol/l de cortisol.

d) Test à la lysine-vasopressine (LVP)

Cette substance possède une action équivalente à celle du CRF. Elle entraîne donc une libération d'ACTH et donc un accroissement du taux de cortisol.

Cette épreuve est utilisée en médecine humaine dans la recherche de tumeurs hypophysaires et surrénales. Elle l'est peu en médecine canine.

MEIJER (13) administre 0,2 UI/kg de L.V.P. Il montre que sur 9 chiens atteints de tumeurs surrénales, 8 répondent positivement à ce test (ces 8 tumeurs étant également sensibles à l'épreuve à l'ACTH).

(Chez l'homme, dans ces cas, l'ACTH hypophysaire est épuisé et ce test, donc sans action, permet ainsi un diagnostic différentiel avec les hyperplasies surrénales ; chez le chien, cela est impossible par ce test).

e) Test à la Metapirone (ou Metopyrone)
(20), (19)

La metapirone empêche l'hydroxylation en 11 des gluco-corticoïdes. L'hypophyse et l'hypothalamus ne reconnaissant pas les 11 desoxystéroïdes, il en résulte un accroissement important de la sécrétion d'ACTH et de métabolites 11 desoxy des gluco-corticoïdes. Les différents éléments sont alors recherchés dans le plasma et les urines.

Cette épreuve est peu utilisée en médecine canine principalement car le dosage d'ACTH du chien est rarement réalisé.

Tableau n° 1

Valeurs des taux de cortisol plasmatique
chez des chiens normaux et cushingoides

en nmol/l

Méthode	valeurs normales		valeurs chez les chiens cushingoides	Référence
	extrêmes	$\hat{m} \pm sd$		
RIA	27 - 188	86 ± 36		13
RIA		64 ± 30.6		5
RIA	26 - 97	64		1
RIA	16.6-78.6		88.3 - 132.5	6
CPB	5.5 - 69		52.5 - 133	20
CPB	5.5 - 69	49 ± 3.6	102 et +	12
CPB	35.9-267		110 - 635	14
CPB	24.8-342	105	71.8 - 345	17
CPB	8.3 - 35.9		30.4 - 364	15
CPB	55 - 262		55 - 276	4

Tableau n° 2

Réponse au test à 1'ACTH chez
des chiens normaux et cushingoides

Méthode	ACTH dose	voie	chiens normaux cortisol (nmol/l)	chiens cushingoides cortisol (nmol/l)	Référence
RIA	2.2 UI/kg	IM	198 - 308		10
RIA	"	"	350 ± 91		5
RIA	4.4 UI/kg	IM	118.7 - 201.5	386.4 - 411	6
CPB	2.2 UI/kg	IM	408.5 ± 88		21
CPB	0.25 mg	IV	441.6 - 662.4	< 828	14
CPB				27 - 1214 $\hat{m}$ 839	17
CPB	0.5 UI/kg	IV	207 - 496	828 - 1656	4
CPB	20 UI	IM	8.3 - 201	483 - 828	9
CPB	60 à 80 UI	IM	91 - 378		9

DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES

Notre attention s'est portée sur l'exploration fonctionnelle de l'axe Hypothalamo-Hypophyso-Surrenal (H.H.S.).

Nous nous sommes intéressés principalement au dosage du cortisol plasmatique chez des animaux :

- sans préparation ;
- au cours d'un test de freination-stimulation.

Par ailleurs, l'opportunité dont nous disposions de pratiquer des dosages de testostérone nous ont amenés à préciser les interférences pouvant exister entre le fonctionnement de la glande surrénale et la cellule de LEYDIG. Ces interférences étant fréquemment suspectées dans la littérature.

CHAPITRE I

EXPLORATION FONCTIONNELLE

DE L'AXE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSO-SURRENAL

Le but de ces recherches est de mettre au point un test simple d'exploration fonctionnelle de l'axe H.H.S. facile à mettre en oeuvre et donc réalisable dans le cadre d'une clinique vétérinaire classique. Nous avons pour ceci réalisé différents protocoles opératoires.

I - MATERIELS et METHODES

1) Animaux

Sont utilisés des chiens Beagles âgés de 2 à 6 ans et pesant de 11 à 16 kg.

Ces chiens sont maintenus en cage par lots de 2 ou 3, ils sont abreuvés à volonté et nourris une fois par jour avec un aliment deshydraté du commerce.

2) Prélèvements sanguins

- Les prélèvements uniques ou très espacés dans le temps (intervalle de plus de 2 heu-

res) sont réalisés, par ponction veineuse à la jugulaire, grâce à un tube à prélèvement sous vide de type VACUTAINER.

- Les prélèvements rapprochés sont réalisés au moyen d'un catheter placé dans la veine saphène externe pour la durée de l'expérimentation.

Les prélèvements sont effectués sur EDTA, centrifugés à 4°C dans la demi-heure suivant le prélèvement, séparés en aliquots et conservés à moins 20°C jusqu'au dosage.

3) Dosage du Cortisol

Le dosage du cortisol est effectué en double grâce à une trousse de dosage du commerce (Kit CPB MERIEUX).

Le matériel de dosage est utilisé en suivant strictement les instructions de la trousse. Néanmoins, dans le but de centrer nos valeurs dans la gamme étalon, il a été nécessaire de diluer les plasmas au 1/11 et non au 1/21 comme conseillé.

Nous avons dû, pour ce faire, vérifier sur 5 plasmas dilués suivant les deux protocoles, la validité du dosage ainsi modifié.

Le comptage est effectué à précision statistique constante (1 %) avec un compteur à scintillation liquide BECKMAN LS 7000.

L'analyse des résultats tient évidemment compte de cette nouvelle dilution. Elle est effectuée par une méthode statistique de linéarisation de la gamme étalon : méthode Logit-Log.

$$\text{Log } \frac{B/B_0}{1-B/B_0} \text{ fonction de Log C}$$

et au moyen d'une calculatrice programmable HP 29 C avec élimination éventuelle des points aberrants.

Le croisement du dosage avec la Dexamethasone étant non précisé dans la notice de la trousse il a fallu vérifier qu'il était, comme prévu, nul aux concentrations sériques attendues dans nos protocoles.

Trois plasmas, séparés en deux aliquots sont donc utilisés pour cette vérification. Le premier aliquot est dosé suivant le protocole normal. Au deuxième sont rajoutées différentes quantités de Dexamethasone de façon à obtenir des concentrations plasmatiques respectives en sel de Dexamethasone de 1 mcg/ml, 0.5 mcg/ml et 0.1 mcg/ml.

Les résultats sont présentés dans le tableau n° 3

Tableau n° 3

Croisement du dosage du cortisol
avec la Dexamethasone

Plasma N°	Cortisolémie (nmol/l)		Dexamethasone ajoutée mcg/ml
	aliquot 1	aliquot 2	
1	39	39	1
2	80	83	0,5
3	19	17	0,1

Il n'existe pas de croisement du dosage avec la Dexamethasone aux concentrations envisagées

4) Produits utilisés

- ACTH : SYNACTHENE IMMEDIAT ampoule de 0,25 mg. Laboratoire CIBA GEIGY.

- Phosphate sodique de Dexamethasone : SOLUDECADRON, ampoule de 1 ml dosée à 4 mg. Laboratoire MERCK-SHARP et DOHME-CHIBRET.

II - PROTOCOLES

* Protocole n° 1

Cortisolémie du chien sans préparation.

- Des prélèvements sanguins uniques ont été réalisés sur 15 chiens beagles.

- Des prélèvements sanguins ont été réalisés toutes les 20 minutes pendant 300 minutes sur 7 chiens cathétersés 10 minutes avant le début des prélèvements.

* Protocole n° 2

Test de freination à la Dexamethasone

- La cortisolémie est évaluée sur des prélèvements sanguins effectués sur 5 chiens beagles aux temps 0, 1, 2, 3 et 5 heures après administration de 0,1 mg/kg de Dexamethasone par voie endo-veineuse (IV)

- Un test similaire est réalisé utilisant la voie intra-musculaire (IM).

* Protocole n° 3

Test de freination-stimulation

Ce test combine le test de freination à la Dexamethasone à une stimulation par l'ACTH.

Il est réalisé sur 5 chiens ainsi que sur un animal de petite race présentant cliniquement un Syndrome de Cushing (chien de Madame T.).

Les diverses phases du protocole se déroulent ainsi :

Temps 0 : -Prélèvement sanguin n° 1
- Administration IV de 0,1 mg/kg
de Dexamethasone

Temps + 2 heures :
-Prélèvement sanguin n° 2
-Administration d'ACTH en IM
2,2 U.I./kg

Temps + 3 heures :
-Prélèvement sanguin n° 3

La cortisolémie est évaluée sur chaque prélèvement.

III - RESULTATS

* Protocole n° 1

Les résultats obtenus sont :

$$43,8 \pm 18,3 \text{ nmol/l } \hat{m} \pm$$

La figure n° 1 est un exemple représentatif de la cortisolémie chez un chien.

* Protocole n° 2

Les résultats sont exprimés sous la forme des figures n° 2 et n° 3.

* Protocole n° 3

Les résultats du test de freination-stimulation sont exprimés dans le tableau n° 4 et la figure n° 4.

Tableau n° 4

Cortisolémie au cours d'un test
de freination-stimulation (nmol/l)

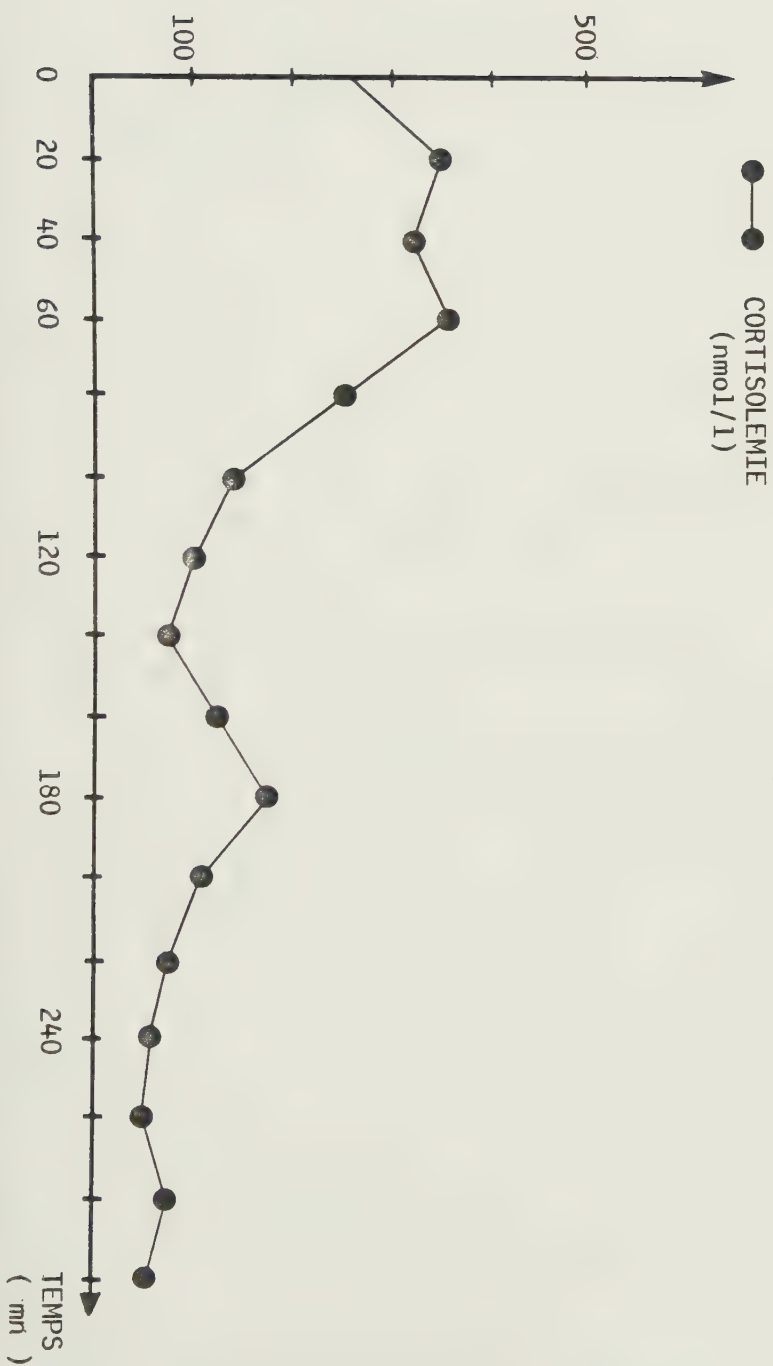
Chien n°	Temps 0	Temps + 2 h	Temps + 3 h
1	15	3	517
2	33	14	281
3	28	11	144
4	50	1	223
5	69	11	152

Les résultats de ce test chez le Chien
de Mme T sont :

- temps 0 : 61 nmol/l
- temps 2 : 18 nmol/l
- temps 3 : 753 nmol/l

EXEMPLE DE CINETIQUE SUR 5 HEURES
DE LA CORTISOLEMIE D'UN CHIEN

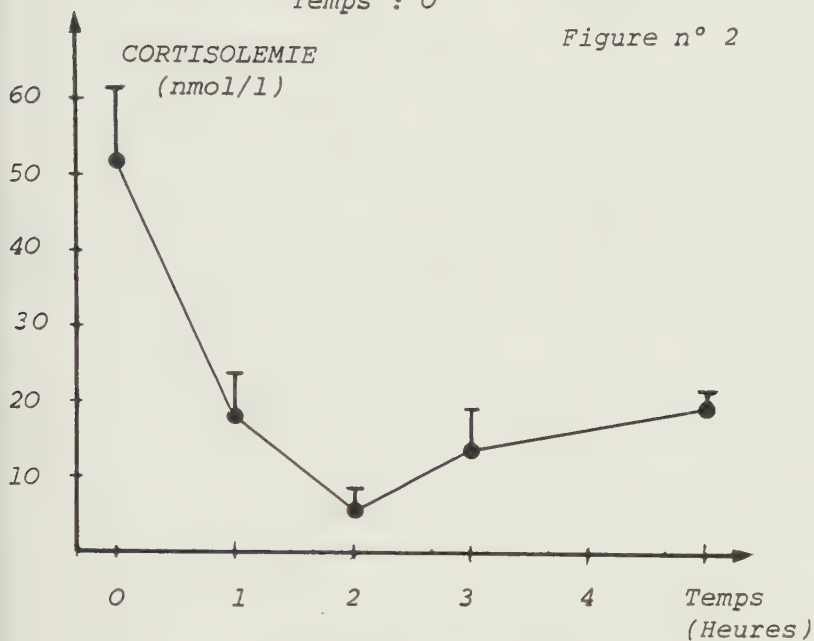
Figure n° 1



TEST DE FREINATION:

Dexamethasone I.V. 0,1mg/kg

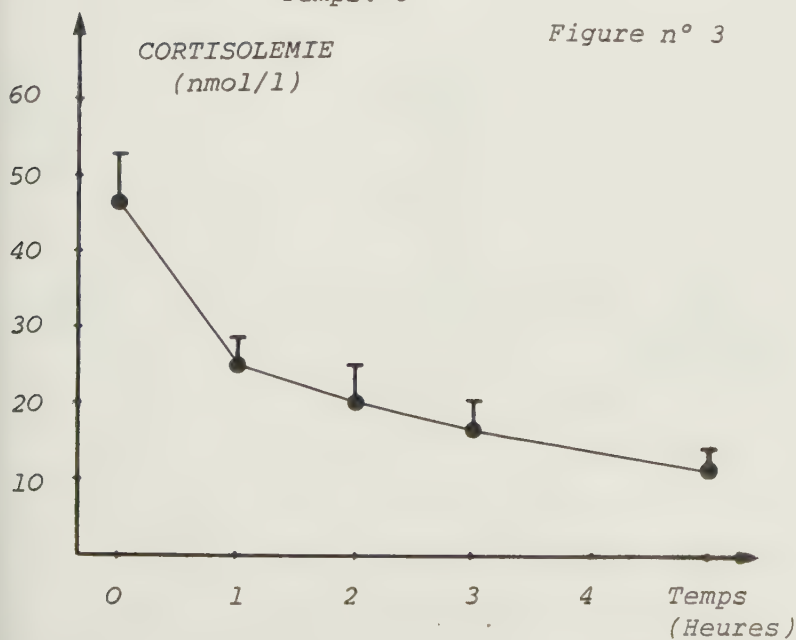
Temps : 0



TEST DE FREINATION:

Dexamethasone I.M. 0,1mg/kg

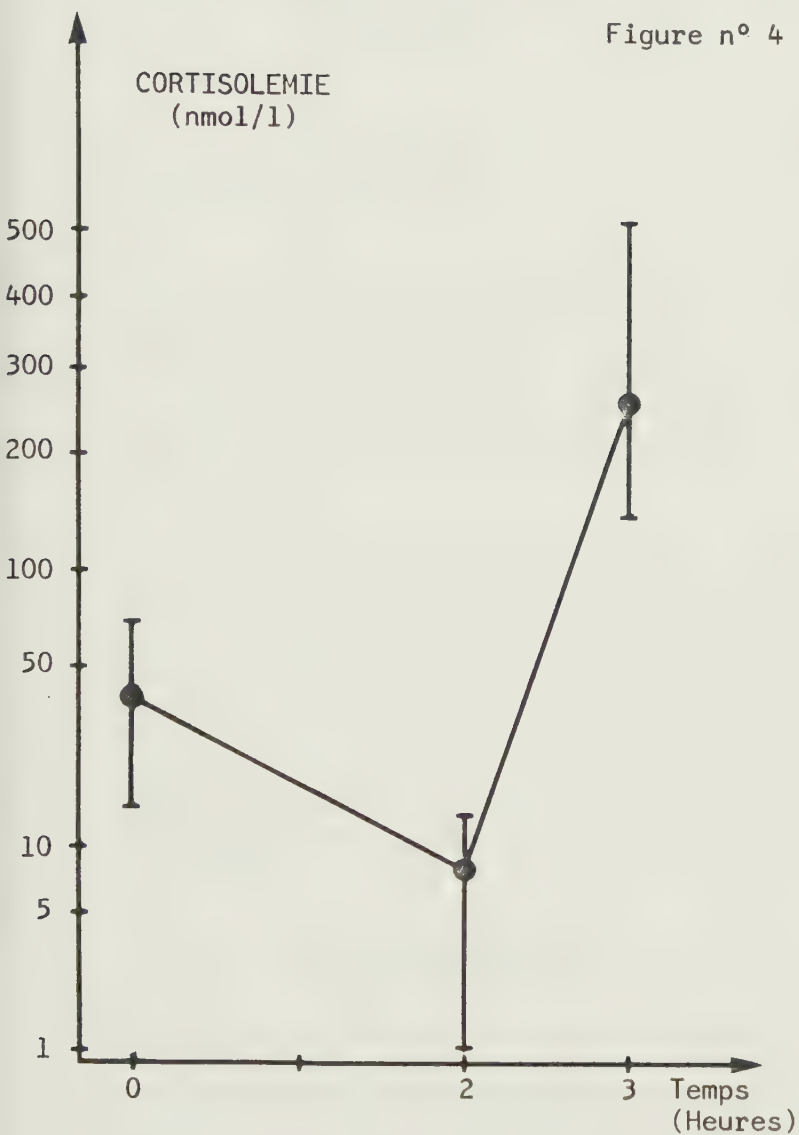
Temps : 0





TEST DE FREINATION-STIMULATION

Figure n° 4





IV - DISCUSSION

1) Cortisolémie sans préparation

Les valeurs isolées de la cortisolémie retrouvées correspondent à celles de la littérature (voir tableau 1).

La cortisolémie du chien est en moyenne beaucoup plus faible que celle de l'homme. Néanmoins, malgré un croisement du dosage à la CPB avec la progestérone de l'ordre de 15 à 18 %, celle-ci ayant des valeurs maximales de l'ordre de 20 ng/ml chez la chienne, elle ne gêne guère l'interprétation des valeurs même faibles de la cortisolémie.

La cortisolémie (figure n° 1) est un paramètre extrêmement variable dans le temps passant de valeurs de l'ordre de 350 nmol/l à 80 nmol/l en moins de 80 minutes. On constate également que la demi-vie plasmatique du cortisol est de l'ordre de 25 minutes, ce qui est très faible par rapport à l'homme où elle est (2) de l'ordre de 85 minutes. Cette courte demi-vie ainsi qu'une cortisolémie faible est due au fait que chez le chien, le taux plasmatique de transcortine est plus faible que chez l'homme.

2) Tests dynamiques

Ces deux tests montrent que la voie I.V. est plus efficace que la voie I.M. : son action est plus rapide, le maximum de freination est obtenu en 2 h. L'inhibition se maintient au moins pendant 5 heures soit toute la période d'observation.



Ainsi, pendant cette période, les centres de commandes supérieurs des surrénales sont inhibés par la Dexaméthasone. Une stimulation par de l'ACTH se faisant alors sur une glande totalement libérée donc au repos physiologique.

La voie I.V. a donc été retenue pour l'élaboration du test de freination-stimulation de l'axe H.H.S.

- Tests de freination-stimulation

Son interprétation nécessite de considérer les trois points suivants :

*cortisolémie au temps 0

Un taux inférieur à 100 nmol/l est normal. Des valeurs proches de 100 nmol/l s'observant si l'animal est excité ou apeuré.

Un taux nettement supérieur s'observera le plus souvent lors de pathologie de l'axe H.H.S.

Une pathologie de l'axe H.H.S. n'impliquant pas obligatoirement un taux élevé.

*période de freination

Nous considérons que la freination est correcte si la cortisolémie évaluée après freination est inférieure ou égale à 50 pour cent de la cortisolémie initiale.

Une freination insuffisante montre une inefficacité du rétro-contrôle négatif des glucocorticoïdes sur les centres supérieurs.

Ceci s'observe fréquemment chez les animaux cliniquement cushingoides présentant des tumeurs surrénales hypophysaires.

*période de stimulation

Les valeurs normales de la cortisolémie une heure après administration d'ACTH sont de l'ordre de $260 \text{ nmol/l} \pm 120 \text{ nmol/l}$, soit environ 5 à 10 fois le taux initial.

Une réponse excessive, supérieure à 550 nmol/l chez un animal cliniquement suspect confirme la présence :

- d'une hyperplasie surrénale si la freination a été effective ;

- d'une tumeur surrénale ou hypophysaire si la freination a été inefficace.

Une absence de réponse doit faire penser également à ces étiologies malignes. Le taux plasmatique est alors constamment très élevé.

Exemple du chien de Mme T. auquel nous avons appliqué ce protocole.

Tableau clinique :

Chien de 7 ans, femelle, Yorkshire,
dépilation généralisée sauf sur la
tête,
abdomen dur, distendu
boulimie
absence de chaleurs
légère polyuro-polydypsie.

Ce tableau ayant appelé une suspicion de syndrome de Cushing, nous avons pu appliquer le Test de Freination-Stimulation (61 - 18 - 753 nmol/l).

Seule la période de stimulation est anormale. Le test confirme donc la suspicion de syndrome de Cushing par hyperplasie corticale.

CHAPITRE II

INFLUENCE DU STRESS

SUR LA SECRETION DE TESTOSTERONE

Lors d'administration d'ACTH à long terme, le taux moyen de testostérone tend à diminuer nettement. Ce phénomène se traduit cliniquement par l'atrophie testiculaire de 30 % des chiens atteints de syndrome de Cushing. A court terme, il était intéressant de savoir si le stress pouvait avoir une influence sur la production de Testostérone.

I - MATERIELS ET METHODES

- voir chapitre précédent
- Dosage de la Testostérone

Le dosage est effectué en double en utilisant une trousse commerciale : "Testostérone 3 H Testosterone RIA Kit", Bio-Mérieux.

Le dosage est réalisé en suivant les instructions de la notice de la trousse selon le protocole n° 2 :

- Extraction à l'éther ;
- Dosage sans chromatographie.

Le rendement d'extraction est estimé à chaque série de dosages. Le calcul des résultats en tient évidemment compte.

Le comptage et l'analyse des résultats bruts sont effectués selon les mêmes méthodes que pour le cortisol.

II - PROTOCOLE

On utilise 7 chiens beagles mâles. Les animaux sont cathétérisés à la veine saphène. Les premiers prélèvements sont effectués 10 minutes après la pose du cathéter (2 ml de sang), suivis régulièrement par d'autres toutes les 20 minutes pendant 5 heures.

On effectue ensuite conjointement les dosages du cortisol et de la testostérone sur chacun d'eux.

III - RESULTATS

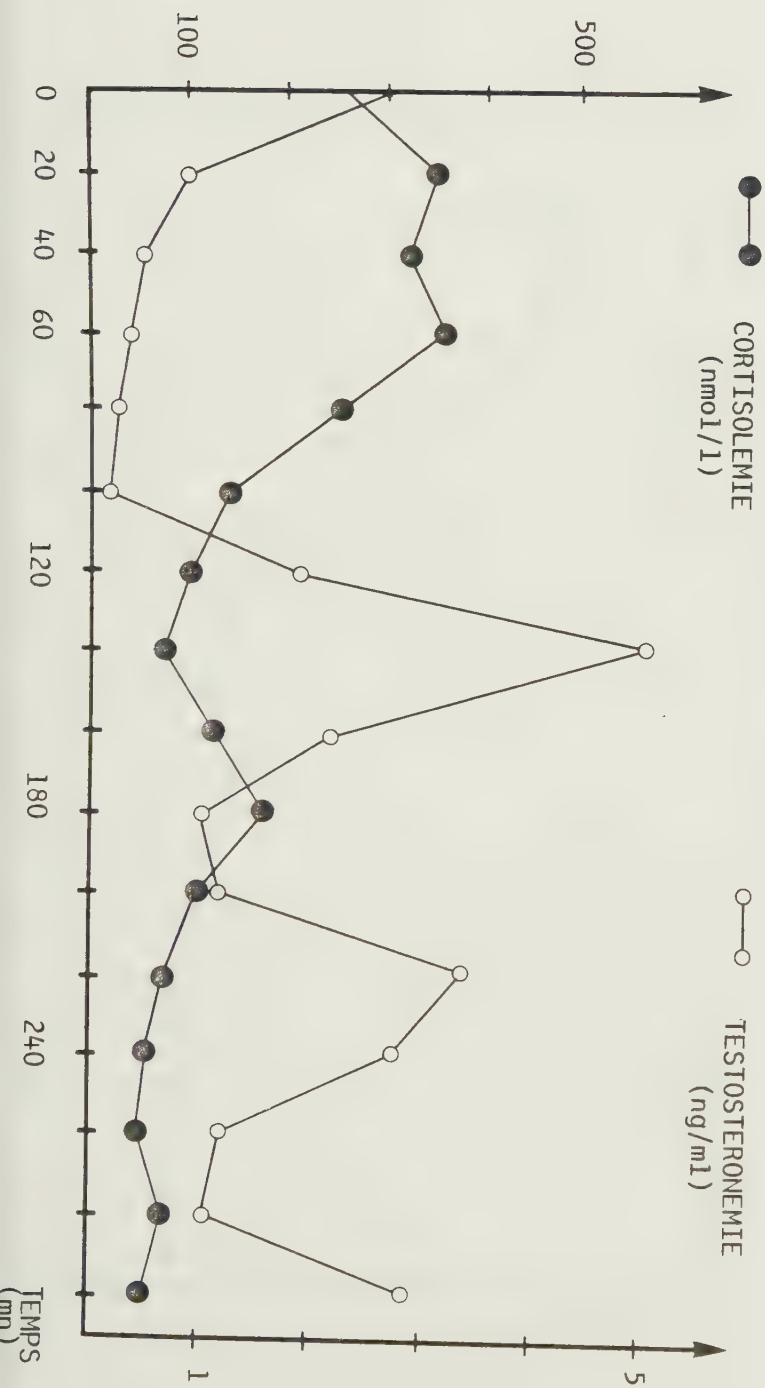
Les courbes obtenues sont du type de la figure n° 5.

La moyenne, point par point, des taux de testostérone et de cortisol en fonction du temps, fait l'objet de la figure n° 6.

IV - DISCUSSION

Pendant les deux premières heures suivant le stress de la pose du cathéter, et chez tous les chiens, il n'a été observé aucun pic de sécrétion de testostérone.

La moyenne des taux montre que, à la 100e minute, la testostéronémie est inférieure à 30 pour cent de la valeur initiale.

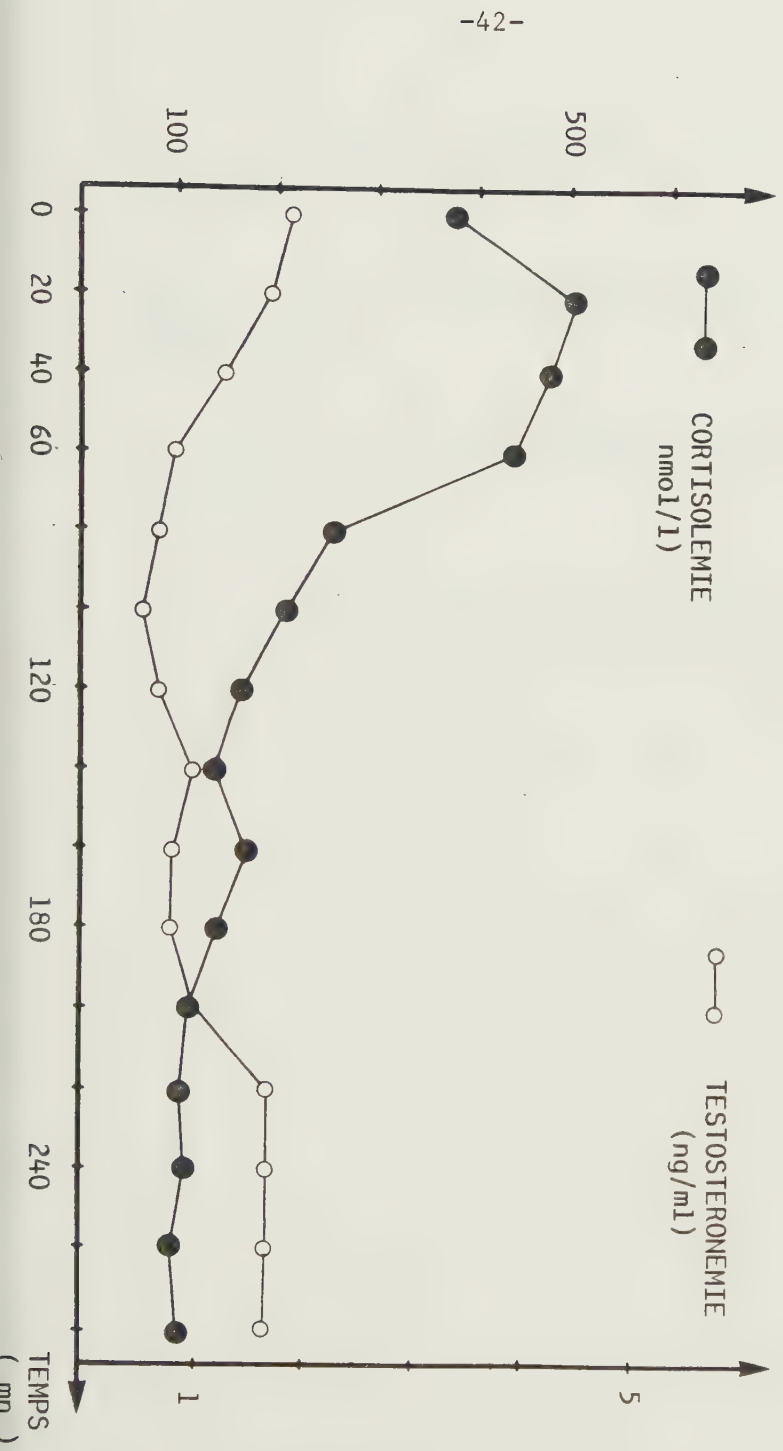


EXEMPLE DE CINETIQUE SIMULTANEE SUR 5 HEURES
DE LA CORTISOLEMIE ET DE LA TESTOSTERONEMIE
PLASMATIQUE D'UN CHIEN

Figure n° 5

CINETIQUE SIMULTANEE SUR 5 HEURES DE LA
CORTISOLEMIE ET DE LA TESTOSTERONEMIE
PLASMATIQUE. MOYENNE DE 7 CHIENS.

Figure n°6



La période d'inhibition observée sur la figure n° 6 dure de la 40e minute jusqu'à la 180e minute.

De la 200e à la 300e minute, les animaux étant au calme, la moyenne des taux est remarquablement stable (1,71 à 1,72 ng/ml pour les 4 dernières valeurs).

Le stress de la pose du cathéter est suivi par une période d'inhibition de la sécrétion de testostérone. Le niveau de cette inhibition n'a pas encore été déterminé.

Cette interrelation stress-testostérone devrait avoir des implications cliniques qui restent à démontrer. Rien dans notre expérimentation ne permet d'affirmer que le cortisol est le médiateur de cette inhibition.

CONCLUSION

L'analyse bibliographique des connaissances sur la production du cortisol dans l'espèce canine nous montre l'absence apparente de rythme nycthéméral de sécrétion. De plus, elle montre la difficulté de l'exploration fonctionnelle de la glande surrénale par l'évaluation de la cortisolémie de base en raison de la variabilité de ce paramètre et de sa grande sensibilité aux agressions de toutes sortes.

Le domaine de variation de la cortisolémie au repos s'étend de 5 nmol/l à plus de 300 nmol/l.

Les travaux entrepris dans la deuxième partie de ce travail permettent dans un premier temps de confirmer cette grande variabilité et aboutissent dans un deuxième temps à mettre au point un test d'exploration fonctionnelle qui fait appel non plus à la cortisolémie de base mais à la capacité totale de sécrétion de la glande.

Le protocole de ce test comprend :

- une prise de sang et une administration de dexaméthasone I.V. au temps 0 ;
- une deuxième prise de sang et une administration d'ACTH I.M. au temps + 2 heure
- un dernier prélèvement sanguin au temps + 3 heure.

La cortisolémie est évaluée sur chacun des prélèvements. Les chiens présentant un syndrome de Cushing ont un taux plasmatique de cortisol après stimulation supérieur à 550 nmol/l.

Enfin, la mesure du taux plasmatique de testostérone au cours de ces expériences de stimulation a permis de mettre en évidence une inhibition associée de la sécrétion de cette hormone. Toutefois, la nature de nos expérimentations n'ont pas pu mettre en évidence le mécanisme de cette inhibition conjointe qui nécessite d'autres types d'investigations actuellement en cours.

Vu :
LE DIRECTEUR
de l'École Nationale Vétérinaire de Lyon,



~~LE PRÉSIDENT~~

LE PROFESSEUR RESPONSABLE
de l'École Nationale Vétérinaire,

P. DELATOUR



LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,



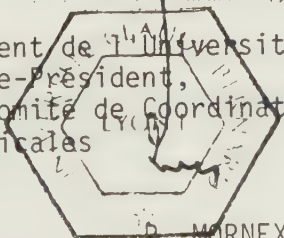
Vu et permis d'imprimer

3 NOV. 1981

LYON, le

19

Pour le Président de l'Université LYON I
Le Premier Vice-Président,
Président du Comité de Coordination
des Etudes Médicales



R. MORNEX

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - BECKER (J.M.), HELLAND (D.), BECKER (D.N.). - Serum cortisol values in normal dogs as determined by radioimmunoassay. Am. J. Vet. Res. 1976, 37, 1101-1102.
- 2 - BEGUE (J.A.). - Biochimie médicale. Tome 2, Edit. Médicales et Universitaires, 1978.
- 3 - CAMPBELL (J.R.), WATTS (C.). - Assessment of adrenal function in dog. Br. Vet. J. 1973, 129, 134-143.
- 4 - CAPEN (C.L.), MARTIN (S.L.), KOESTNER (A.). - Neoplasms in adenohypophysis of dogs. A clinical and pathologic study. Path. Vet. 1967, 4, 301.
- 5 - CHASTAIN (C.B.), GRAHAM (C.L.). - Adrenocortical suppression in dogs on daily and alternate-day prednisone administration. Am. J. Vet. Res. 1979, 40, 936-941.
- 6 - CHEN (C.L.), KUMAR (M.S.A.), WILLIARD (M.D.), LIAO (T.F.). - Serum hydrocortisone values in normal and adrenopathic dogs as determined by R.I.A. Am. J. Vet. Res. 1978, 39, 179-180.

- 7 - EGDAHL (R.H.). - The acute effects of steroids administration on pituitary adrenal secretion. J. Clin. Invest. 1969, 43, 2178-2184.
- 8 - FELDMAN (E.C.), TYRRELL (J.B.). - Hypoadrenocorticism. Symposium of Endocrinology, Veterinary Clinic of North America, 1977, 7, 555-581.
- 9 - HALLIWELL (R.), SCHWARTZMAN (R.N.), HOPKINS (L), and al. . - The values of corticosteroids assays in the diagnosis of Cushing disease in the dog. J. Small Anim. Pract. 1971, 12, 453-462.
- 10 - JOHNSTON (S.D.), MATHER (E.C.). - Canine plasma cortisol measured by radioimmunoassay : clinical absence of diurnal variation and results of ACTH stimulation and dexamethasone suppression test. Am. J. Vet. Res. 1979, 39, 1766-1770.
- 11 - KANEKO et CORNELIUS. - Clinical biochemistry of domestic animals. Second edit. vol. I, Acad. Press edit., New York, 1970.
- 12 - KELLY (D.F.), DARKE (P.G.). - Cushing's syndrome in the dog. Vet. Rec. 1976, 98, 28-30.
- 13 - MEIJER (J.C.), LUBBERINK (A.A.), RIJNBEEK (A.), CROUGHS (R.J.). - Adrenocortical function tests in dog with hyperfunctioning adrenocortical tumours. J. Endocrinology, 1979, 80, 315-319.

- 14 - MULNIX (J.A.). - Diseases of the adrenal glands. PAAHA, 1977, 44, 193.
- 15 - OPITZ (M.), WEISS (J.). - The determination of adrenal cortex activity by measurement of corticosteroid level in peripheral blood of dogs with Cushing's syndrome. Proc. Voorjaarsdagen, Congres Neth. Small Anim. Vet. Assoc., Amsterdam, 1974.
- 16 - OWENS (J.M.), DRUCKER (W.D.). - Hyperadrenocorticism in the dog canine Cushing's syndrome. Symposium of Endocrinology, Veterinary Clinics of North America, 1977, 7, 583-602.
- 17 - SCHECHTER (R.D.), STABENFELDT (G.H.), GRIBBE (D.H.), LING (G.V.). - Treatment of Cushing's syndrome in the dog with an adrenocorticolytic agent : op'DDD. J.A.V.M.A., 1973, 162, 629-638.
- 18 - SIEGEL (E.T.). - Determination of 17 OH corticosteroids in canine urine. Am. J. Vet. Res. 1965, 26, 1152.
- 19 - SIEGEL (E.T.). - Endocrine diseases of the dog. Lea et Febiger edit., Philadelphia, 1977.
- 20 - SCOTT (D.W.). - The skin and internal diseases. The Veterinary Clinics of North America, Février 1979, 9, 1.

- 21 - VIAL (G.), STABENFELDT (G.H.), FRANTI (C.E.),
LING (G.V.). - Influence of environment on
adrenal cortical response to ACTH stimu-
lation in clinically normal dogs. Am. J.
Vet. Res. 1979, 40, 919-921.
- 22 - VAN DER VIES (J.). - Individual determination
of cortisol and corticosterone in single
sample of peripheral blood. J. Acta
Endocrinol. 1961, 38, 399-406.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.....	2
-------------------	---

PREMIERE PARTIE : ANALYSE BIBLIOGRAPHIQUE	3
---	---

CHAPITRE I

BIOCHIMIE DES GLUCO-CORTICOIDES DANS L'ESPECE CANINE.....	3
1 - Biosynthèse.....	3
2 - Transport et dégradation.....	6
3 - Régulation.....	7
4 - Fonctions biochimiques.....	8
5 - Biochimie pathologique.....	9
6 - Relation cortisol - hormones sexuelles.....	12

CHAPITRE II

EXPLORATION FONCTIONNELLE DE L'AXE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSAIRE SURRENAL DANS L'ESPECE CANINE.....	14
1 - Mesure de la concentration du cortisol plasmatique.....	14
2 - Dosage des métabolites urinaires	17
3 - Tests dynamiques.....	18

DEUXIEME PARTIE : RECHERCHES PERSONNELLES 25

CHAPITRE I

EXPLORATION FONCTIONNELLE DE L'AXE
HYPOTHALAMO-HYPOPHYSO-SURRENAL.... 26

I - Matériels et méthodes

1) Animaux..... 26

2) Prélèvements sanguins..... 26

3) Dosage du cortisol..... 27

4) Produits utilisés..... 28

II - Protocoles..... 29

III - Résultats..... 31

IV - Discussion..... 35

1) Cortisolémie au repos..... 35

2) Tests dynamiques..... 35

CHAPITRE II

INFLUENCE DU STRESS SUR LA SECRETION
DE TESTOSTERONE..... 39

I - Matériels et méthodes..... 39

II - Protocoles..... 40

III - Résultats..... 40

IV - Discussion..... 40

CONCLUSION..... 44

BIBLIOGRAPHIE..... 46

TABLE DES MATIERES..... 50

